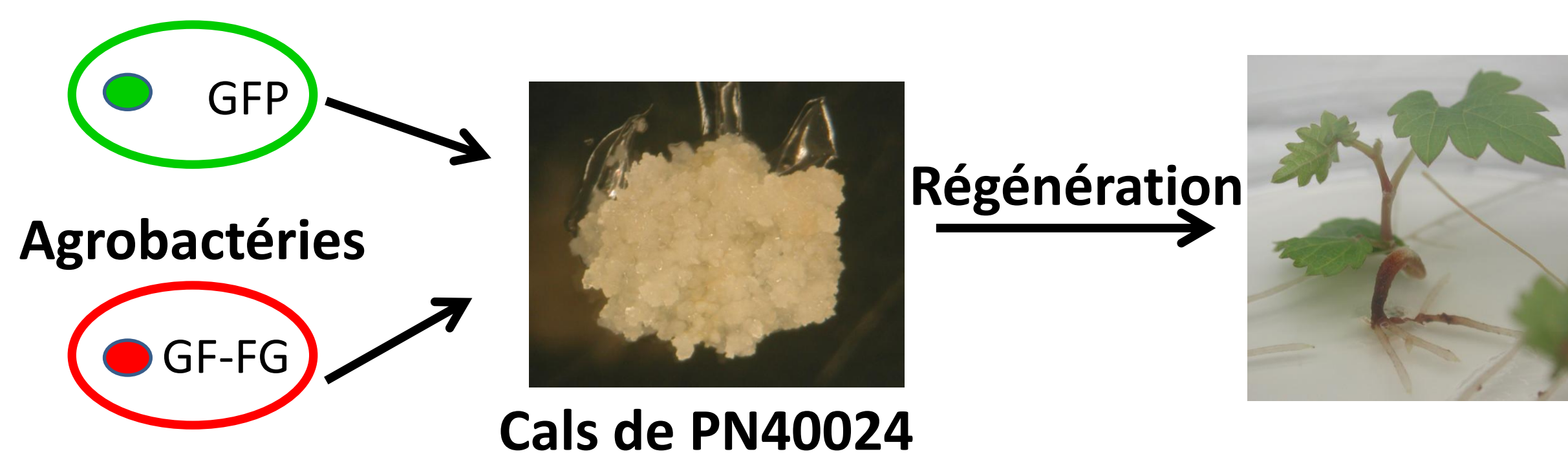


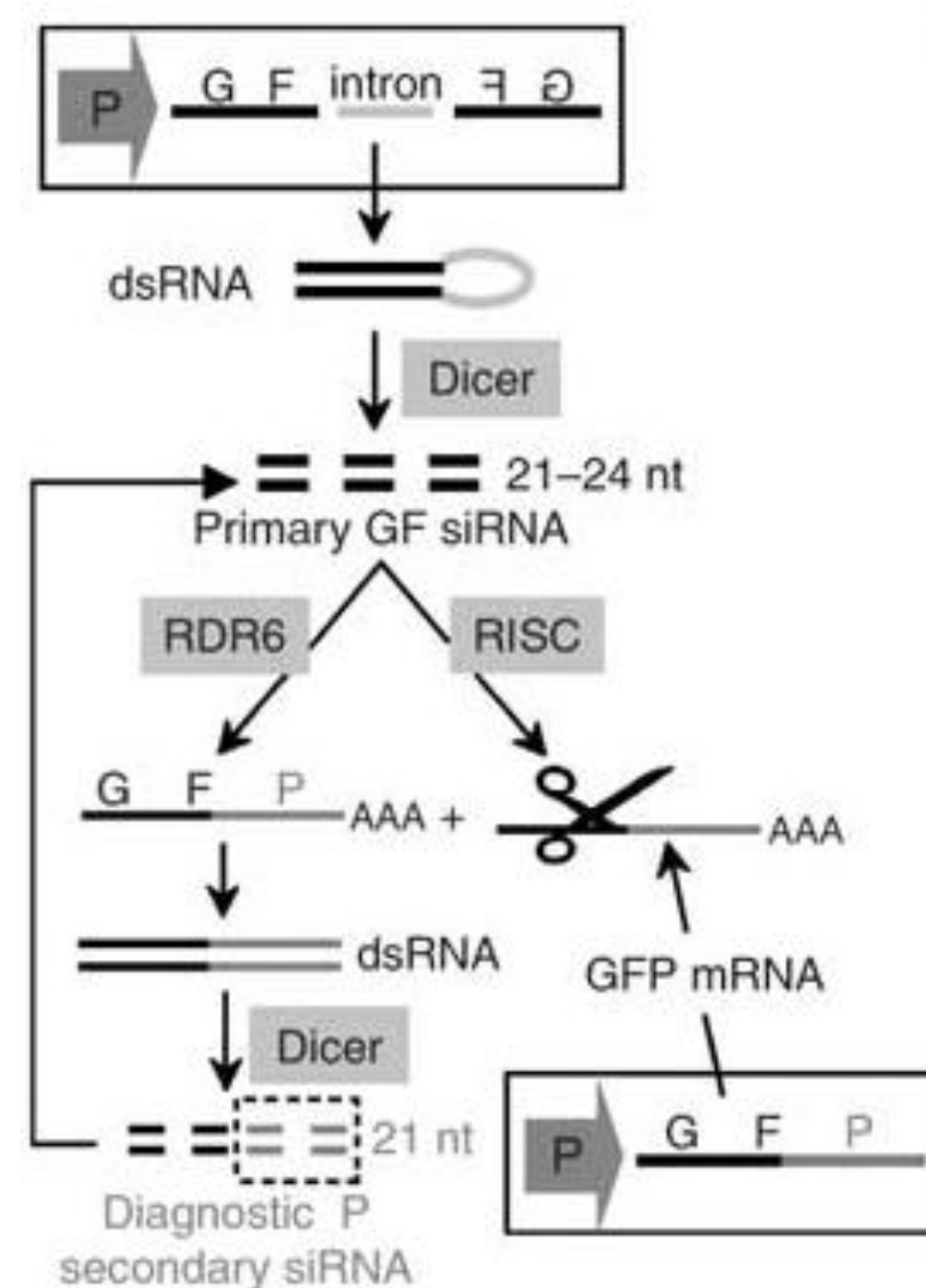
Caractérisation des mécanismes d'extinction génique chez la vigne

Isabelle SOUSTRE-GACOUGNOLLE¹, Mireille PERRIN², Carine SCHMITT², Elodie CHEVALIER², Yannick BURDLOFF², Damien GAYRARD², Hervé VAUCHERET³, Patrice DUNOYER⁴ et Jean MASSON²

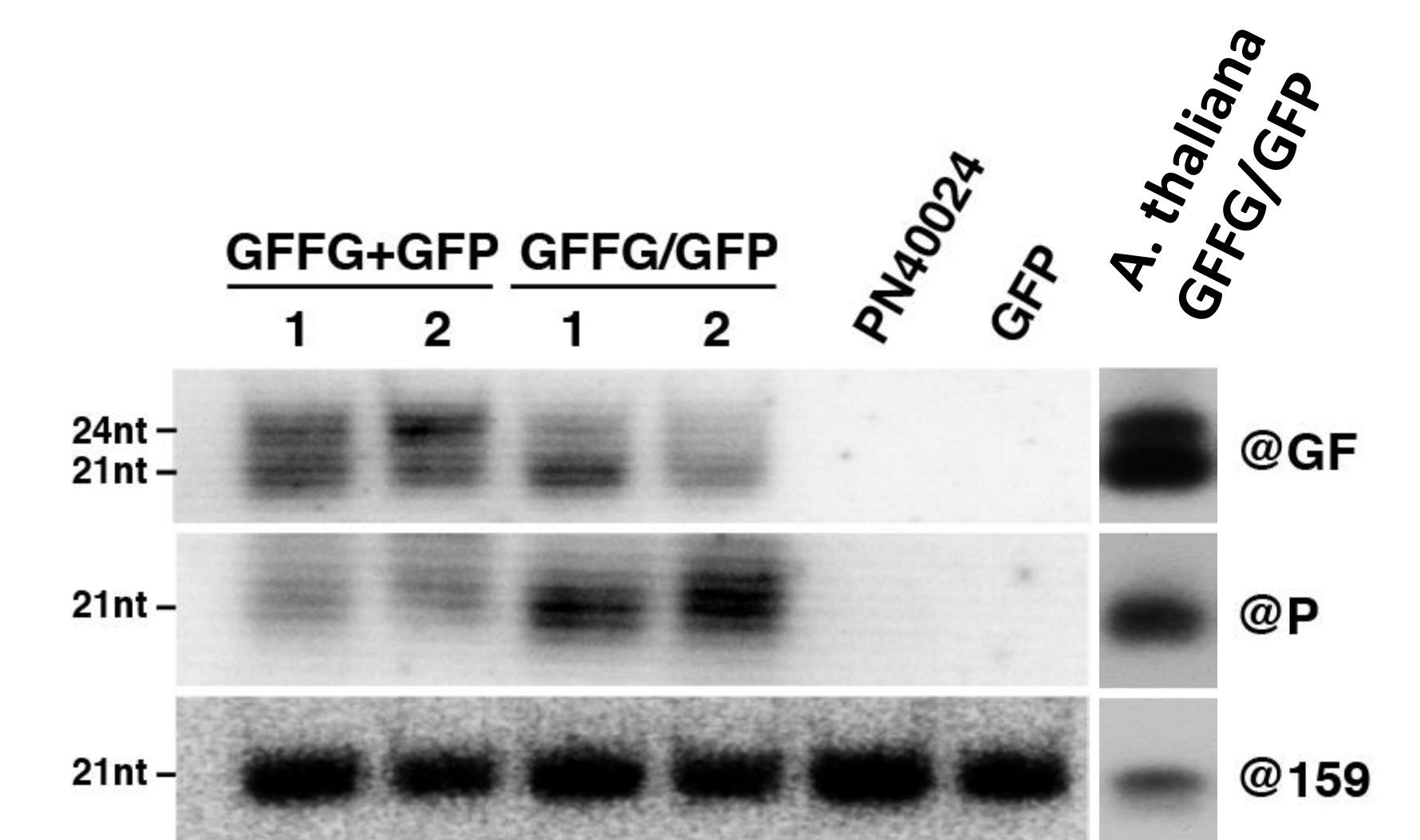
- L'extinction génique Post-Transcriptionnelle (PTGS) est une voie naturelle de défense des plantes face aux agressions virales.
- Elle fait appel à l'expression de gènes Dicer qui reconnaissent l'ARN du virus et le clivent en siRNA, petites molécules d'ARN de 21nt à 24nt. Ces siRNA sont pris en charge par le complexe RISC (RNA-Induced Silencing Complex) pour cibler les ARN messagers du virus et les dégrader. Ils servent également d'amorces dans un mécanisme d'amplification qui contribue à une meilleure défense de la plante.
- Une construction tige-boucle dirigée contre le gène GFP a été introduite dans des vignes transgéniques fluorescentes contenant une copie du gène GFP. Les vignes obtenues voient une extinction de la fluorescence concomitante à une apparition de siRNA «GF» et «P» prouvant la fonctionnalité du PTGS chez la vigne.



Principe d'obtention de plantes transgéniques GFP/GF-FG (Plateforme de Transformation de la vigne)

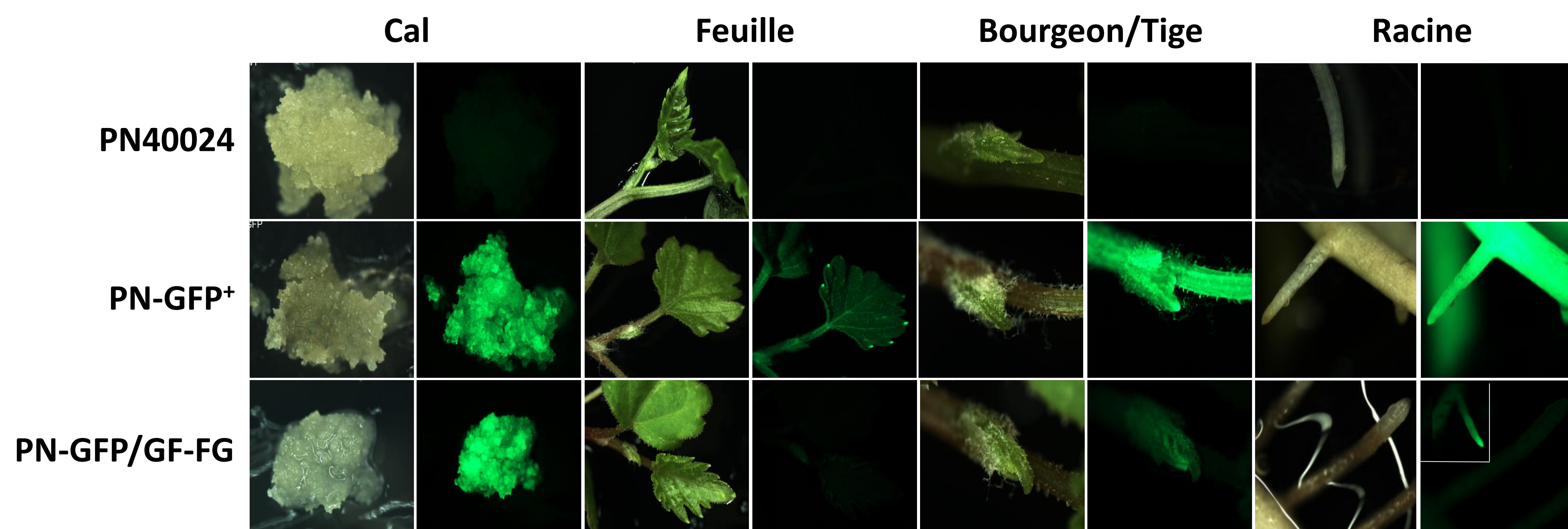


Tige-boucle GF-FG et voie d'activation du PTGS (Dunoyer et al. 2006)

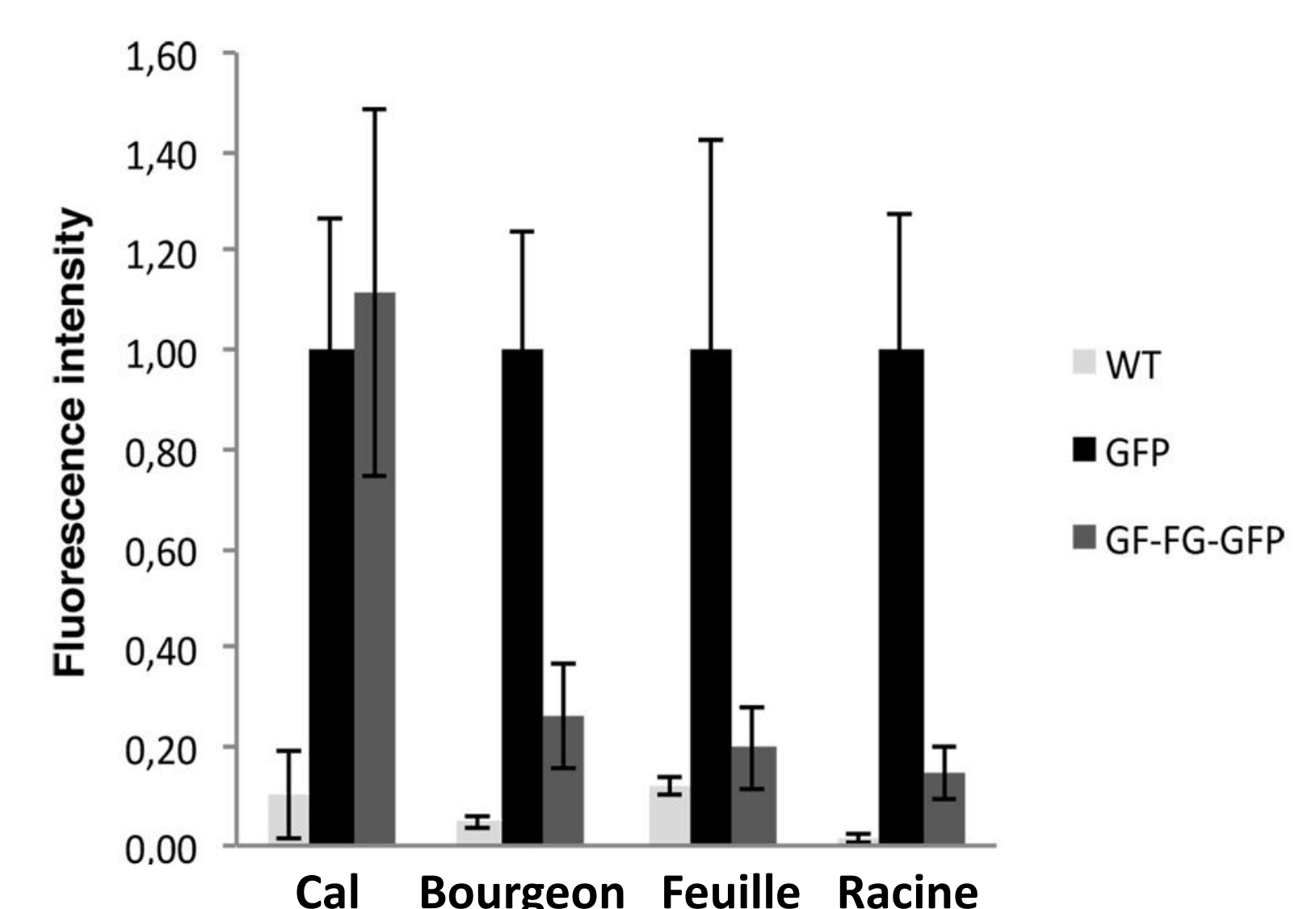


Northern Blot des siRNA (21-24 nt) de la GFP

- On constate cependant que le PTGS est moins efficace dans les zones méristématiques.



Photos avec loupe à épifluorescence sous U.V filtre Bandpass.



Quantification de l'intensité de fluorescence organe par organe

- Actuellement, le modèle développé est utilisé pour une analyse phénotypique et moléculaire de l'efficacité du PTGS chez la vigne pour des températures de culture allant de 37 à 4°C.
- A terme, le modèle permettra une étude de la propagation du PTGS, en particulier dans un système porte-greffe/greffon.
- Une étude de l'interaction des virus avec les méristèmes de la vigne permettra de déterminer si la faiblesse du PTGS dans ces zones favorise l'entrée et la propagation virale. La vigne est la cible d'environ 45 virus différents.

Références:

- Andrew J. Hamilton *et al.* (1999). A Species of Small Antisense RNA in Posttranscriptional Gene Silencing in Plants. *Science* 29 Vol. 286 no. 5441, 950-952.
- Louise Jones *et al.* (1999). RNA-DNA Interactions and DNA Methylation in Post-Transcriptional Gene Silencing. *The Plant Cell*, Vol. 11, 2291-2301.
- Jonathan R. Phillips *et al.* (2007). The role of small RNAs in abiotic stress. *FEBS Letters* 581, 3592-3597
- Virginia Ruiz-Ferrer *et al.* (2009). Roles of Plant Small RNAs in Biotic Stress Responses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60:485-510
- Dunoyer P, Himber C, Voinnet O. (2006) Induction, suppression and requirement of RNA silencing pathways in virulent *Agrobacterium tumefaciens* infections. *Nat Genet.* 38(2):258-63.

Remerciements:

Conseil Régional Alsace, Conseil Inter-professionnel des Vins d'Alsace CIVA, Départements Scientifiques GAP et BV de L'INRA